Deutscher Bundestag
13. Wahlperiode

Drucksache 13/10507

22. 04. 98

Kleine Anfrage

der Abgeordneten Dr. Manuel Kiper, Marina Steindor und der Fraktion BÜNDNIS 90/DIE GRÜNEN

Sicherheit von eukaryontischen Zellkultursystemen

In vielen Bereichen der modernen Biologie und Medizin stehen heutzutage zellbiologische Systeme im Mittelpunkt intensiver Forschungsansätze. Das bessere Verständnis der äußerst komplexen Vorgänge in der einzelnen Zelle gilt als Schlüssel zur Beantwortung einer Vielzahl von Fragestellungen, deren (human-) medizinische Bedeutung weit über eine rein grundlagenforschungsorientierte Relevanz hinausgeht. Die Herstellung monoklonaler Antikörper in Hybridomazellinien, die anfangs eine rein grundlagenforschungsorientierte Bedeutung hatten, kann hier als Meilenstein der Entwicklung angesehen werden (G. Koehler & C. Milstein; 1975 Nature 256 [5517] 495–497). Mittlerweile finden die so gewonnenen Antikörper etwa in der HIV- und Hepatitis-Diagnostik, aber auch in speziellen Therapieansätzen Anwendung.

Die Erweiterung des methodischen Spektrums der Zellforschung durch die Molekularbiologie hat zu vielen Antworten aber auch zu einem ungleich größeren Spektrum neuer Fragestellungen geführt. In einigen Fällen ist es zudem möglich geworden, Tierexperimente durch den Einsatz von Zellkulturmodellen erheblich einzuschränken.

Doch auch in der Produktion verschiedener rekombinanter Polypeptide/Proteine finden eukaryontische Zellkultursysteme seit einiger Zeit vermehrt Anwendung. Diese zeichnen sich im Gegensatz zu Bakterien durch die Fähigkeit aus, eine Vielzahl von Makromolekülen auf verschiedenste Weise zu modifizieren. Die äußerst komplexen Prozessierungsschritte finden dabei in spezialisierten Organellen wie dem ER und dem Golgi-Apparat statt, die in Bakterien fehlen. Der Zelle dienen die Modifikationen als wichtige Signale, ohne die das rekombinante Molekül seine Wirkung nicht entfalten oder sogar toxisch wirken kann. Zu den besagten Modifikationen gehören beispielsweise die Phosphorilierung und verschiedene Formen der Glykolisierung von Polypeptiden. Hefen und Pilze beherrschen diese Modifikationen nur eingeschränkt, so daß hier in erster Linie rekombinante Zellinien von Säugetieren die einzige Möglichkeit darstellen, komplexe Glykoproteine wie etwa die Humantherapeutika Faktor VIII oder Erythropoietin (EPO) in größerer Menge zu gewinnen.

Als Alternative wird gegenwärtig das sog. Genfarming diskutiert: Hierbei sezernieren transgene Nutztiere aufgrund genetischer Modifikationen komplexe Proteine wie den humanen Blutgerinnungsfaktor VIII (R. K. Paleyanda et al. 1997; Nature Biotechnology 10 [15] 971–75) mit der Milch. Andere Versuche wiederum zielen auf transgene Pflanzen zur Produktion von Fremdproteinen. So wurden beispielsweise Tabakpflanzen dahin gehend verändert, daß sie funktionelle Humanproteine (z. B. monoklonale Antikörper) in erstaunlicher Menge produzieren (A. Hiatt et al. 1989; Nature [342] 76–78).

Der „klassische", nicht-rekombinante Ansatz beruht hingegen auf der Isolierung des gewünschten Moleküls aus Blut oder Gewebe. Allerdings birgt dieses Verfahren das Risiko von (viralen) Kontaminationen in den Präparaten, wie es zeitweilig bei einigen Blutgerinnungspräparaten durch HIV der Fall war (P. Aldhous 1993; Science [262] 1205). Doch auch bei der Verwendung eukaryontischer Zell-Linien besteht die Gefahr, daß Viren aus den Zellen in das Präparat gelangen können. So wurde Anfang der sechziger Jahre in einer Reihe von Chargen des Poliovirus-Impfstoffs auch das Affenvirus Simian Virus 40 (SV 40) entdeckt (R. Kurth 1997; Spektrum der Wissenschaft, Dossier: Seuchen [3] 22–27). Eine abschließende Beurteilung, ob SV 40 beim Menschen die Entstehung bestimmter Tumore verursachen/begünstigen kann, steht noch aus (persönliche Mitteilung Prof. Geißler, MDC vom 17. November 1997).

Eine andere Gefahrenquelle ergibt sich aus der Tatsache, daß etwa 1 % aller Säugetierzellen Retroviren in ihrem Genom tragen. Rein rechnerisch sind demnach auch 1 % aller zur Forschung und Produktion eingesetzten Zell-Linien Trägerinnen von Retroviren. Hier ist zumindest in einigen Anwendungsbereichen (z. B. der Herstellung attenuierter, viraler Lebendimpfstoffe) ein ähnliches Gefährdungspotential denkbar, wie es auch für den Bereich der retroviralen Übertragung bei Xenotransplantationen ermittelt wurde.

Auch (nicht vollständig) inaktivierte Viren stellen eine Gefährdung bei Arbeiten mit Zellkulturen dar. Seit einiger Zeit ist bekannt, daß die experimentelle Einschleusung eines viralen Genoms – also der reinen DNA – in seine Wirtszellen unter idealen Bedingungen zu funktionellen Viren und der damit verbundenen Krankheit bei Primaten führen kann (C. Sureau et al. 1988; J. Virol. 62 [8] 3064–7). In seiner Konsequenz noch viel weitergehender ist ein Umstand, den man sich zunehmend in Form der Entwicklung von DNA-Vakzinen zunutze macht: Nach der Injektion geeigneter, reiner DNA in Muskelgewebe kommt es zur gewünschten Immunreaktion gegen die entsprechend codierten Proteine (J. A. Wolff et al. 1990; Science [247] 1465–68 und J. A. Wolff et al. 1992; Hum. Mol. Genet. [1] 363–9). Offenbar besitzen eukaryontische Zellen in gewissem Umfang die Fähigkeit, Fremd-DNA aufzunehmen und zu transkribieren/translatieren. Die genauen Mechanismen sind noch unbekannt.

Wir fragen die Bundesregierung:

1. An wie vielen Produktionsstandorten werden nach Kenntnis der Bundesregierung heute bundesweit Zellkultursysteme von Säugetieren zur kommerziellen Herstellung rekombinanter Wirkstoffe eingesetzt?
2. Welcher Produktionsmaßstab wird dabei maximal verwendet (bitte nach Fermentergröße in Litern und nach Ertrag der gewünschten Reinsubstanz pro Tag spezifiziert)?
3. Werden dabei die rekombinanten Proteine von den verwendeten Zellkulturen ins Medium sezerniert und daraus isoliert oder müssen die Zellen zuvor aufgeschlossen werden?
4. Sind der Bundesregierung Fälle bekannt, bei denen es durch Komponenten im Nährmedium zu Verunreinigungen oder viralen bzw. bakteriellen Kontaminationen der Zellkulturen und/oder des gewonnenen (rekombinanten) Wirkstoffs kam?
5. Gibt es für die obligatorische Medium-Komponente „fötales Rinderserum" (FCS) international gültige Qualitätskontrollen und -standards und ist für fötales Rinderserum eine Herkunft aus BSE-kranken Viehbeständen auszuschließen?
6. Sind der Bundesregierung Fälle bekanntgeworden, bei denen in Forschungs- oder Produktionsstätten Zoonosen von Zellkulturen auf den Menschen (z. B. Laborpersonal) übertragen worden sind?
7. Wenn der unter Frage 6 beschriebene Fall für Produktionsstätten zutrifft: Welche Konsequenzen hatte dieser Umstand für die Herstellung sowie den Verkauf/Vertrieb der erzeugten Wirkstoffe?
8. Hat die prinzipielle Fähigkeit von eukaryontischen Zellkulturen zur Aufnahme „nackter" (Plasmid-)DNA nach Kenntnis der Bundesregierung über die akademische Fragestellung hinaus Relevanz für die Arbeiten mit diesen Systemen?
9. Wie beurteilt die Bundesregierung in diesem Zusammenhang die Tatsache, daß für verschiedene Viren der Nachweis der „infektiösen DNA" erbracht wurde, und liegen hierin grundsätzliche Gefahren für den Umgang mit Zellkulturen?
10. Liegen der Bundesregierung Hinweise vor, nach denen auch der DNA-Transfer von Zellkulturen in Richtung Mensch (z. B. auf das Laborpersonal) unter bestimmten Voraussetzungen (Eindringen in offene Wunden etc.) denkbar ist?
11. Ist in gleicher Weise die Übertragung von Viren auf den Menschen denkbar?
12. Sind der Bundesregierung bezüglich der Fragen 10 und 11 entsprechende Fälle in Forschungs- oder Produktionsstätten auf nationaler und internationaler Ebene bekanntgeworden?
13. Welche verbindlichen Richtlinien und Vorschriften gibt es für den Umgang mit onkogener DNA bei Arbeiten an Zellkultursystemen, und haben sich diese als ausreichend erwiesen?

14. Sind der Bundesregierung Fälle bekanntgeworden, bei denen die (versehentliche) Inkorporation intakter rekombinanter Zellen zu Erkrankungen der betroffenen Person(en) geführt hat?

15. Gibt es in der Bundesrepublik Deutschland verbindliche Richtlinien für die Entsorgung von (rekombinanten) Zellkulturen, und wenn ja, welche?

    Sind die ensprechenden Forschungs- oder Produktionsanlagen zum Nachweis der Unbedenklichkeit der Zellkulturabfälle bzw. deren vollständiger Inaktivierung verpflichtet (bitte näher ausführen)?

16. Wie beurteilt die Bundesregierung die genetische Stabilität der in Forschung und Produktion verwendeten Zellkulturlinien?

17. Zu welchem Anteil sind die in der Produktion von rekombinanten Wirk- und Impfstoffen verwendeten Zell-Linien Trägerinnen von kompletten Retroviren (Proviren) oder retroviralen Genfragmenten?

18. Existieren nach Kenntnis der Bundesregierung garantiert Retroviren-freie Produktionszell-Linien und werden diese in der Bundesrepublik Deutschland auch verwendet?

19. Ist die Sicherheit dieser Zell-Linien durch experimentelle Überprüfung (z. B. durch „patch repair assays") hinreichend dokumentiert?

    Falls dies der Fall ist, sind diese Überprüfungen öffentlich dokumentiert?

20. Liegen verbindliche Empfehlungen, Richtlinien, Vorschriften etc. seitens der Bundesregierung vor, die den Gebrauch sicherer Zell-Linien im Sinne von Frage 18 regeln?

21. In welchem Umfang unterstützt die Bundesregierung Projekte zur Sicherheitsforschung bezüglich eukaryontischer Expressionssysteme?

22. Wie beurteilt die Bundesregierung die alternativen Ansätze der Gewinnung rekombinanter Proteine in transgenen Pflanzen und Tieren („gene-pharming")?

23. Welche Risiken sind der Bundesregierung bezüglich transgener Pflanzen und Tiere zur Produktion rekombinanter (Human-)Proteine bisher bekanntgeworden?

24. Unterstützt die Bundesregierung die Forschung an transgenen Pflanzen und Tieren zur Produktion rekombinanter (Human-)Proteine?

    Wenn ja, in welchem Umfang?

Bonn, den 21. April 1998

Dr. Manuel Kiper
Marina Steindor
Joseph Fischer (Frankfurt), Kerstin Müller (Köln) und Fraktion

Druck: Thenée Druck, 53113 Bonn, Telefon 91781-0
Vertrieb: Bundesanzeiger Verlagsgesellschaft mbH, Postfach 13 20, 53003 Bonn, Telefon (02 28) 3 82 08 40, Telefax (02 28) 3 82 08 44
ISSN 0722-8333